

I PENDAHULUAN

Kebutuhan energi kini kian meningkat seiring dengan perkembangan dan jumlah penduduk, baik skala dunia maupun nasional. Bertambahnya jumlah industri di Indonesia diiringi dengan peningkatan kebutuhan bahan bakar minyak (BBM) diantaranya bensin, solar dan minyak pelumas. Peningkatan tersebut, harus diiringi dengan peningkatan kualitas pengelolaan BBM tersebut untuk mencegah atau meminimalkan akibat pencemaran yang ditimbulkannya. Terdapat banyak cara untuk mengatasi pencemaran, salah satunya adalah dengan cara biologis.

Teknik ini merupakan teknologi pengolahan limbah yang ramah lingkungan, karena dampak negatifnya rendah dan penggunaan bahan kimia yang minim. Selain itu, produk akhir dari teknologi ini merupakan bahan yang ramah lingkungan, misalnya pada biodegradasi minyak bumi, produk akhir dari proses biodegradasi yang berjalan dengan baik adalah air dan karbon dioksida. Banyaknya tanah yang tercemar senyawa Hidrokarbon sehingga diperlukan pengolahan.

Dalam kesempatan ini penulis mengkaji bagaimana memperbaiki kondisi tanah yang tercemar hidrokarbon dengan mikroorganisme dan melihat kemampuan bakteri dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon. Sehingga akan menambah wawasan ilmu pengetahuan khususnya tentang teknologi bioremediasi, untuk dikembangkan dalam konteks perbaikan tanah tercemar hidrokarbon. Buku monograf ini disusun berdasarkan serangkaian

percobaan yang dilakukan dengan skala Laboratorium dengan menggunakan sampel tanah yang tercemar hidrokarbon. Proses bioremediasi yang diimplementasikan pada kesempatan ini dengan proses bioremediasi secara aerob. Untuk mengetahui tingkat keberhasilan proses bioremediasi tersebut dilakukan pengujian dengan menganalisa hidrokarbon dengan melihat metoda TPH (total petroleum hydrocarbon).

II Bioremediasi

2.1. Pengertian Umum

Cookson (1995) menjelaskan bahwa bioremediasi dapat diaplikasikan untuk membersihkan lahan yang terkontaminasi bahan-bahan kimia berbahaya. Produk akhir bioremediasi adalah berupa CO₂, air, dan massa sel mikroorganisme (Mc Millen, 1998). Menurut US-EPA bioremediasi merupakan proses pengolahan yang menggunakan mikroorganisme alami (seperti ragi, jamur, atau bakteri) untuk memecah atau mendegradasi substansi-substansi toksik menjadi substansi yang toksisitasnya lebih rendah atau non toksik. Pada dekade terakhir, bioremediasi memegang peranan penting. Hal ini disebabkan dalam mengatasi permasalahan lingkungan yang sama, bioremediasi diketahui lebih efektif dari segi pembiayaan dibandingkan dengan penerapan teknologi lainnya seperti insinerasi dan *containment* (Cookson, 1995). Selain itu, bioremediasi menarik untuk diaplikasikan karena dapat memusnahkan hampir semua kontaminan organik serta tidak berdampak negatif bagi kesehatan makhluk hidup dan lingkungan.

Sebelumnya, aplikasi bioremediasi hanya mendapatkan sedikit perhatian. Hal ini disebabkan oleh beberapa masalah. *Pertama*, adanya anggapan bahwa banyak komponen kimia berbahaya atau kontaminan resisten terhadap biodegradasi. Sebetulnya, kontaminan menjadi resisten karena kondisi lingkungan yang tidak sesuai untuk aktivitas mikroba pendegradasi. *Kedua*, kurangnya penelitian yang mengarah

pada interaksi biokimia mikroba. Dan yang *ketiga*, kurangnya pengetahuan terhadap proses-proses biologis sehingga mengakibatkan terjadinya kesalahan persepsi mengenai sistem biologis yang dianggap tidak dapat dikontrol dan diprediksi. Tabel 1 menunjukkan perbandingan biaya yang dibutuhkan untuk beberapa metode pengolahan limbah.

Tabel 1. Efektivitas Bioremediasi Dari Segi Pembiayaan.

Metode	Tahun Pertama	Tahun Kedua	Tahun Ketiga
Insinerasi	\$ 530	-	-
Solidifikasi	\$ 115	-	-
Landfill	\$ 670	-	-
Thermal desorption	\$ 200	-	-
Bioremediasi	\$ 175	\$ 27	\$ 20

Keterangan : biaya tahunan yang dikeluarkan per yard³

(Sumber : Bioremediasi Report (1993; dalam Cookson, 1995)).

2.2. Tumpahan Minyak

Pencemaran tanah dapat disebabkan oleh terlepasnya berbagai bahan kimia yang diproduksi atau digunakan dalam aktivitas manusia ke permukaan atau ke dalam tanah. Minyak (petroleum) adalah salah satu contoh produk yang sangat luas penggunaannya

terutama di bidang industri. Pencemaran tanah oleh minyak dapat disebabkan oleh terjadinya:

- Tumpahan minyak
- Kecelakaan kendaraan pengangkut
- Kebocoran tangki bawah tanah dan permukaan tanah
- Kebocoran pipa minyak
- Buangan proses

Kandungan senyawa hidrokarbon dalam minyak dapat diklasifikasikan sebagai Hidrokarbon Alifatik. Sikloalkana, Hidrokarbon Aromatik, dan Hidrokarbon Poli-Aromatik.

2.2.1. Senyawa Alifatik

Cincin atom karbon dari hidrokarbon alifatik tersusun secara linier, bercabang, atau melingkar tertutup (alisiklik). Alifatik juga terbagi menjadi beberapa golongan, yaitu:

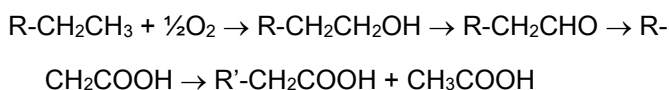
- a. Parafin (alkana) yang memiliki ikatan atom C jenuh

Alkana adalah hidrokarbon alifatik jenuh berikatan tunggal dan stabil terhadap reaksi kimia dengan rumus empiris C_nH_{2n+2} . Alkana merupakan petroleum hydrocarbon yang sangat mudah terdegradasi. Namun alkana pada range C₅ hingga C₁₀ merupakan penghambat dalam proses degradasi hidrokarbon. Pada konsentrasi tinggi, senyawa ini bersifat toksik yaitu mampu merobek membran lipid pada sel mikroorganisme.

- b. Olefin (alkana) adalah hidrokarbon alifatik tak jenuh yang memiliki minimal satu ikatan rangkap 2 dengan rumus empiris C_nH_{2n} .

- c. Alkana adalah hidrokarbon alifatik tak jenuh yang memiliki minimal satu ikatan rangkap 3 dengan rumus empiris C_nH_{2n-2} .

Degradasi hidrokarbon alifatik sebagian besar berlangsung secara aerobik. Proses tersebut diawali dengan masuknya oksigen pada hidrokarbon yang dibantu enzim oksigenase. Enzim oksigenase menyerang terminal gugus metil untuk mengubahnya menjadi alkohol. Alkohol dioksidasi menjadi aldehid dan selanjutnya menjadi asam karboksilat. Asam karboksilat didegradasi lebih jauh lagi melalui oksidase beta. Proses tersebut dapat digambarkan melalui reaksi berikut:



2.2.2. Senyawa Sikloalkana

Sikloalkana adalah hidrokarbon alisiklik (cincin siklis) tunggal dan banyak dengan rumus empiris C_nH_{2n} . Senyawa ini sangat stabil namun lebih reaktif daripada alkana (Andriani, 1993). Sebagaimana pada senyawa alkana, semakin besar jumlah atom C semakin tinggi pula Sg dan titik didihnya. Degradasi sikloalkana biasanya juga dioksidasi pada gugus terminal metil dan menjadi alkohol.

2.2.3. Senyawa Aromatik

Hidrokarbon Aromatik terbentuk dari 1 molekul benzena dimana 6 buah atom tersusun menyerupai cincin dengan ikatan tunggal dan ganda (Eweis, 1998). Volatilitas yang tinggi dan kelarutan yang rendah

umumnya dimiliki oleh hidrokarbon aromatik ini. Kandungan hidrokarbon aromatik turut menentukan tingkat toksisitas minyak bumi. Menurut Cookson (1995), cincin benzene hidrokarbon banyak terkandung dalam hidrokarbon aromatik. Contohnya adalah benzena, toluena, etilbenzena, dan xilena yang sering disebut sebagai senyawa BTEX.

Senyawa hidrokarbon aromatik sulit didegradasi dan dapat menghasilkan senyawa intermediate yang tidak diinginkan. Metode dasar penyerangan mikroba pada komponen aromatik bercincin tunggal membentuk senyawa dihidrodiol. Dihidrodiol dioksidasi membentuk alkil katekol yang merupakan senyawa intermediate. Hasil oksidasi pemecahan cincin adalah terbentuknya aldehyd serta asam yang siap digunakan mikroorganisme untuk sintesa sel dan energi.

2.2.4. Senyawa Poli Aromatik

Disebut juga dengan polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) yang terdiri dari beberapa senyawa aromatik yang menyatu, misalnya naftalena, asenaftena dan fluorena. PAH bersifat karsinogenik (Baker dan Herson, 1994). Semakin banyak jumlah molekul aromatik yang menyatu senyawa PAH ini semakin sulit terurai.

2.2.5. Tingkat Pencemaran

Tingkat pencemaran minyak dipengaruhi oleh karakteristik pencemarnya, yaitu:

- *Vapor Pressure*

Kemampuan minyak untuk menguap dapat dilihat dari nilai Tekanan Uap (Vapor Pressure) yang didefinisikan sebagai gaya tekanan yang dihasilkan oleh uap persatuan luas dalam kondisi seimbang. Semakin tinggi tekanan uapnya semakin mudah penemaran minyak tersebut menguap. Tekanan uap meningkat secara eksponensial jika suhu meningkat. Pencemar minyak dengan berat molekul tinggi memiliki tekanan uap yang rendah.

- *Water Solubility*

Kemampuan minyak untuk melarut dapat dilihat dari nilai Kelarutan (*Water Solubility*) yang didefinisikan sebagai berat suatu senyawa yang dapat larut per satuan volume air. Semakin tinggi nilai kelarutannya, semakin banyak jumlah minyak dapat larut dalam air (pengenceran). Proses pengenceran tersebut akan menurunkan konsentrasi. Hal ini dapat mempercepat proses biodegradasi karena komponen yang konsentrasinya lebih rendah, lebih mudah terdegradasi.

- *Liquid density, liquid viscosity dan vapor density*

Kemampuan bergerak (mobilitas) minyak diantara butiran tanah dapat dilihat dari berat jenis (*Liquid Density*), kekentalan (*Liquid Viscosity*) dan berat jenis uap (*vapor density*) yang dimilikinya.

- *Biodegradability*

Tingkat biodegradasi dipengaruhi oleh jenis hidrokarbon, tingkat kelarutan, konsentrasi, dan jenis molekul. Waktu Terurai Separuh (*Aerobic Half Life*) adalah waktu yang dibutuhkan untuk mengurangi separuh hidrokarbon. Nilai tersebut dapat menunjukkan laju degradasi hidrokarbon. Dalam penelitiannya Zo Bell (1950) dalam

Udiharto, 1992) menyimpulkan bahwa mikroba lebih mudah menguraikan hidrokarbon dengan:

- Struktur alifatik (tidak bercabang) seperti n-alkana
- Rantai panjang
- Ikatan jenuh
- Rantai bercabang banyak

Hidrokarbon rantai pendek dengan jumlah karbon dari 10 selain sulit didegradasi, cenderung lebih toksik karena kelarutannya yang tinggi. Namun jarang ditemui karena mudah mengalami penguapan (Cookson, 1995 dalam Andriany, 2001). Udiharto (1992 dalam Indarto, 1999) selanjutnya menjelaskan bahwa saat ini mikroba telah mampu menguraikan rantai pendek dengan baik.

- Konsentrasi

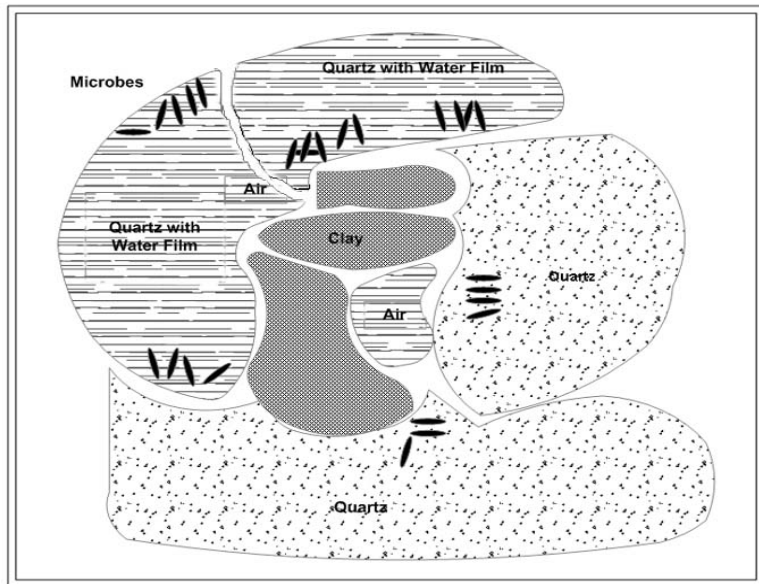
Konsentrasi zat kimia mempengaruhi tingkat biodegradasinya. Salah satu cara untuk mengukur yaitu dengan analisa *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH). Komponen yang rendah konsentrasinya lebih mudah terdegradasi karena dapat menunjang pertumbuhan dan perkembangan populasi mikroba. Namun bila terlalu rendah konsentrasinya, mikroba tidak akan mendapatkan energi dalam jumlah yang cukup. Selain itu, komponen yang konsentrasinya terlalu tinggi kemungkinan dapat bersifat toksik bagi mikroba tanah. Selanjutnya pada tabel 2. dapat diketahui beberapa pencemar minyak.

Tabel 2. Sifat-Sifat Pencemar Minyak

Jenis Pencemar	Kelarutan (mg/L)	Tekanan Uap (mm Hg)	Titik Didih (°C)	Liquid Density (g/cm ³)	Liquid Viscosity (cPoise)	Vapor Density (gm ³)
Bensin	131 – 185 (158)	263 – 675 (469)	40 – 205	0,72 – 0,76	0,36 – 0,49	1950
Minyak Tanah			175 – 325			
Solar	3,2	2,12 – 26,4 (14,3)	200 – 338	0,87 – 0,95	1,15 – 1,97	109
Minyak Pelumas	Tidak larut	Tidak menguap	Tidak menguap	0,84 – 0,96	275	Tidak menguap

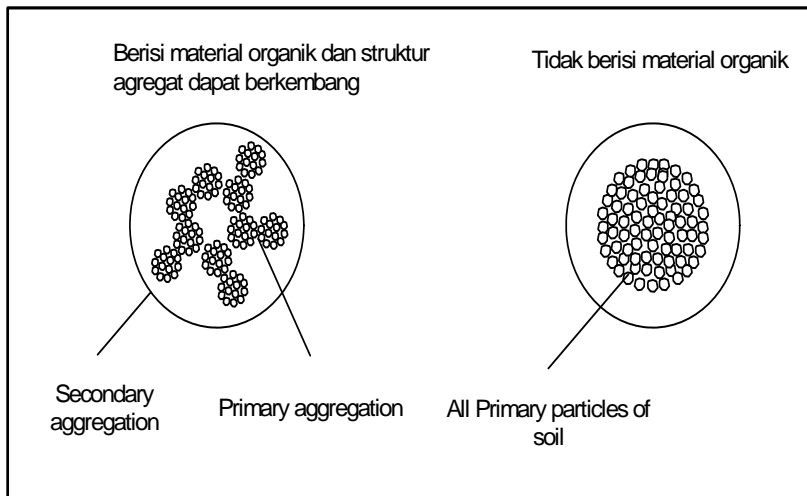
2.3. Struktur Tanah

Pada dasarnya struktur tanah tersusun atas agregat tanah yang terdiri dari material organik dan anorganik, air, udara, dan mikroorganisme (Gambar 1). Tanah yang memungkinkan untuk diolah adalah tanah yang mengandung material organik dan struktur agregat yang dapat berkembang. Material organik dalam tanah membawa masing-masing partikel tanah bersama menjadi agregat kedua, sehingga porositas tanah memungkinkan air lolos dengan mudah.



Gambar 1. Tipikal Agregat Tanah (Sumber: Muchamad ,1997 dalam Indarto, 1999)

Tanah yang bagus kemampuan untuk menghisap, sedangkan tanah yang buruk atau tidak mengandung material organik cenderung mengeras. Berikut ini akan ditunjukkan struktur tanah yang dapat diolah dan yang sulit diolah pada gambar 2



Gambar 2. Struktur Tanah (Sumber: Muchamad 1997 dalam Indarto, 1999)

Intensitas dan lingkup pencemaran minyak juga dipengaruhi oleh karakteristik tanahnya, meliputi:

- *Soil porosity*. Porositas tanah yang tinggi akan mempermudah penyebaran dan pergerakan pencemar
- *Moisture content*. Mempengaruhi penyebaran pencemar dan dapat menghambat pergerakan pencemar yang kelarutannya rendah.
- *Hydrolic conductivity*. Mempengaruhi letak pencemar dan mempermudah pergerakannya.
- *Air conductivity*. Mempengaruhi keberadaan pencemar dan mempermudah pergerakan uap pencemar.
- *Soil sorption capacity*. Daya serap tanah yang tinggi dapat menghambat pergerakan pencemar.
- Kandungan kimia: Interaksi senyawa kimia dalam tanah seperti kandungan organik di zona tanah atas akan menahan laju migrasi

pencemar serta menjadi tempat hidup mikroba pendegradasi minyak.

- Kandungan mikroba.

2.4. Prinsip Proses Bioremediasi

Pemanfaatan reaksi mikrobiologis bagi kepentingan manusia adalah pengkomposan sampah organik. Kemampuan mikroba dalam menguraikan pencemar organik terurai (biodegradable organics) juga diterapkan dalam upaya pengurangan konsentrasi pencemar organik di dalam tanah, air dan lumpur yang selanjutnya menjadi definisi dari bioremediasi.

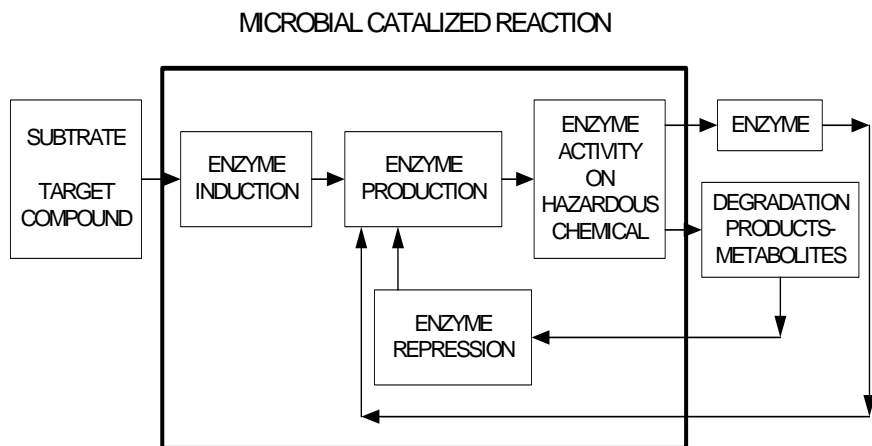
Reaksi metabolisme mikrobiologis untuk menguraikan senyawa organik merupakan suatu reaksi redoks (reduksi-oksidasi) yang dilakukan oleh mikroba. Sebagai suatu reaksi redoks, reaktan yang ada berperan sebagai:

- Donor Elektron: atau reaktan yang memiliki kelebihan elektron sehingga mampu memberikan elektronnya ke reaktan lain. Bahan organik dalam pencemar merupakan contoh donor elektron yang disebut juga sebagai substrat (makanan) atau sumber energi.
- Akseptor elektron; atau reaktan yang menerima kelebihan elektron dari reaktan lain. Oksigen merupakan contoh akseptor elektron dalam proses bioremediasi dalam kondisi aerobik yang juga disebut sebagai oksidator.

Bioremediasi berlangsung akibat aktivitas enzim yang di suplai oleh mikroorganisme untuk mengkatalis pemusnahan bahan-bahan kontaminan. Reaksi kimia tersebut merupakan reaksi oksidasi-reduksi

yang penting untuk menghasilkan energi bagi mikroorganisme. Bioremediasi membutuhkan kehadiran sumber energi yang sesuai, sistem donor-akseptor elektron, dan nutrisi. Prinsip metabolisme mikrobial pada bioremediasi ditunjukkan oleh Gambar 3.

Metabolisme mikrobial dalam bioremediasi dapat berlangsung pada kondisi aerobik maupun anaerobik. Mikroorganisme aerobik dan reaksi aerobik membutuhkan kehadiran oksigen molekular yang berperan sebagai akseptor elektron (respirasi). Reaksi anaerobik berlangsung tanpa kehadiran oksigen molekular. Reaksi ini terbagi menjadi respirasi anaerobik, fermentasi, dan fermentasi metana.



Gambar .3. Prinsip metabolisme mikroba dalam bioremediasi (Sumber , Cookson, 1995)

Dalam bioremediasi, sistem aerobik lebih banyak digunakan karena lebih efisien daripada sistem anaerobik. Efisiensi bioremediasi dipengaruhi oleh lingkungan, fisik, dan kimia (Eweis, 1998). Lingkungan

memberikan pengaruh yang besar dalam proses bioremediasi. Kondisi lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan mikroba sebagai pelaku utama pendegradasi pencemar sangat diperlukan. Mikroorganisme sangat sensitif terhadap perubahan temperatur, pH, ketersediaan nutrisi, oksigen, dan kelembaban. Faktor fisik yang penting bagi mikroba adalah ketersediaan zat pencemar sebagai sumber energi, air, dan asektor elektron.

Air dibutuhkan karena mikroba mendapatkan karbon organik, nutrisi inorganik, dan asektor elektron untuk pertumbuhannya dalam kondisi terlarut. Asektor elektron untuk pertumbuhannya dalam kondisi terlarut. Asektor elektron terakhir yang paling banyak digunakan oleh mikroba dalam sistem respirasinya adalah oksigen.

Ketersediaan oksigen terbatas, mikroba dapat menggunakan asektor elektron yang lain diantaranya NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} dan CO_2 . Sedangkan faktor kimia yang penting dalam bioremediasi adalah struktur molekul zat pencemar. Pada rantai alkana bercabang, sulit didegradasi oleh mikroba. Percabangan juga mempengaruhi tingkat degradasi pada isomer (Gibson, 1984 dalam Eweis, 1998). Misalnya, n-oktana lebih mudah terdegradasi daripada 3- profil pentana, meskipun keduanya memiliki rumus empiris yang sama yaitu C_8H_{18} .

2.4.1. Mikroorganisme Pendegradasi Minyak

Kehadiran minyak (hidrokarbon) di alam menyebabkan terseleksi jenis mikroorganisme dan sistem enzim tertentu yang mampu mendegradasi komponen ini. Namun tidak semua jenis senyawa ini dapat dibiodegradasi dalam tingkat/laju yang sama.

Senyawa hidrokarbon dengan sifat yang dimilikinya pada umumnya dapat dibiodegradasi. Mc. Millen (1998) menjelaskan bahwa hidrokarbon yang terkontaminasi dalam lumpur minyak merupakan sumber energi yang baik bagi mikroorganisme pendegradasi. Beberapa karakteristik hidrokarbon yang dapat dikonsumsi oleh mikroorganisme tersebut adalah:

- Hidrokarbon yang non-asphalthene dan non polar
- Kadar salinitasnya rendah, karena proses biodegradasi hidrokarbon akan berjalan lebih cepat pada kondisi non salin.
- Kadar logamnya rendah, karena proses biologis tidak mengubah komponen logam menjadi komponen inorganik, meskipun keberadaan logam sangat stabil di dalam tanah maupun untuk proses pengomposan.

Menurut Rosenberg dkk (1992) biodegradasi hidrokarbon petroleum membutuhkan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim pengoksidasi hidrokarbon petroleum, memiliki kemampuan untuk melekat pada hidrokarbon petroleum, dan bisa memproduksi emulsifier. Selain itu dibutuhkan pula air, oksigen, fosfor, dan nitrogen.

Pikoli, Aditiawati, dan Astuti (2000) menyatakan bahwa isolat bakteri yang berasal dari sumur minyak bumi menghasilkan isolat bakteri pendegradasi minyak bumi. Isolat tersebut dapat dimanfaatkan untuk bioremediasi lingkungan yang terkontaminasi tumpahan atau limbah minyak bumi, baik di lingkungan air maupun di darat. Isolat bakteri pendegradasi minyak bumi umumnya merupakan pengoksidasi alkana normal karena komponen ini mendominasi kebanyakan minyak bumi. Selain itu alkana lebih larut dalam air dan terdifusi kedalam

membran sel bakteri. Sedangkan bakteri pendegradasi komponen minyak bumi yang bersifat resisten, berjumlah lebih sedikit dan tumbuh lebih lambat. Hal ini disebabkan bakteri jenis tersebut kalah bersaing dengan pendegradasi alkana yang memiliki substrat lebih banyak dan lebih mudah didegradasi sehingga mengakibatkan bakteri ini sulit diisolasi. Bakteri kemoheterotof misalnya dari genus *Pseudomonas* memiliki kemampuan untuk menguraikan kontaminan organik.

Menurut Stainer dkk, (1986; dalam Baker dan Herson, 1994) *Pseudomonas* mampu menggunakan lebih dari 90 jenis senyawa organik sebagai sumber karbon dan energinya. Mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon petroleum tersebut di permukaan, sub permukaan tanah, maupun formasi batuan yang sangat dalam.

Menurut Bitton (1984; dalam Cookson, 1995) terdapat lebih dari 20% jumlah populasi tanah yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon.

Leahy dan Colwell (1990) menyebutkan bahwa bakteri aerobik diketahui lebih banyak melakukan degradasi terhadap komponen hidrokarbon. Menurut bakteri pendegradasi hidrokarbon tersebut antara lain *Achromobacter sp.*, dan *Corneform sp.* Sedangkan Suarovskaya dan Altumina (1999; dalam Noervironinggar, 2002) menyebutkan bahwa bakteri pengoksidasi hidrokarbon yang banyak ditemukan adalah spesies dari *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Microccus*, *Rhodococcus*, dan *Arthrobacter*. Dalam penelitiannya Bossert dan Bertha menemukan 22 genus bakteri yang dapat hidup dalam lingkungan minyak bumi, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Bacillus* dan *Flavobacterium*.

Bossert dan Compeau (1995) menyebutkan bahwa terdapat 22 jenis isolat bakteri dan 31 jenis isolat jamur yang diambil dari tanah, dapat menggunakan hidrokarbon sebagai substrat pertumbuhannya. Isolat bakteri tersebut telah bertambah jumlahnya menjadi 28 jenis isolat yang merupakan bakteri gram negatif, bakteri nonfermentasi, yang didominasi oleh bakteri *coryneform*, yang pada umumnya berasal dari grup pendegradasi hidrokarbon. Sedangkan menurut Cookson (1995) terdapat lebih dari 160 genus jamur yang diketahui dapat tumbuh pada hidrokarbon. Beberapa mikroorganisme diketahui memiliki kemampuan yang spesifik dalam mendegradasi hidrokarbon petroleum tertentu.

Menurut Douglas dkk. (1992) kemampuan bakteri mendegradasi hidrokarbon berturut-turut: n-alkana > alkana bercabang > hidrokarbon aromatik > alkana siklik. Rheinherm, (1980; dalam Indarto, 1999) hidrokarbon alifatik rantai pendek seperti etena, propana, dan butana dapat dioksidasi oleh genus bakteri *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, dan *Nocardia*. Tabel 2.3 memuat daftar bakteri dan *yeast* (ragi) yang diketahui memiliki kemampuan untuk mendegradasi hidrokarbon petroleum alifatik.

Tabel 3. Daftar Bakteri Dan Ragi Pengoksidasi Hidrokarbon Petroleum Alifatik

Bakteri	Ragi
<i>Achromobacter</i>	<i>Candida</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>Debaryomyces</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Endomyces</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Hansemula</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Mycotorula</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Pichia</i>
<i>Benecka</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Selenotila</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Sporidiobolus</i>
<i>Methylobacter</i> *	<i>Sporobolomyces</i>
<i>Methylobacterium</i> *	<i>Torulopsis</i>
<i>Methylococcus</i> *	<i>Trichosporon</i>
<i>Methylocytis</i> *	
<i>Methylomonas</i> *	
<i>Metylosimus</i>	
<i>Micromonospora</i>	
<i>Mycobacterium</i>	
<i>Nocardia</i>	
<i>Pseudomonas</i>	
<i>Spirillum</i>	
<i>Vibrio</i>	

*Sumber karbon utama adalah metana

Sumber: Bitton (1984; dalam Cookson, 1995)

Cerniglia (1992, dalam Rosenberg dan Ron, 1996) menyebutkan bahwa berbagai mikroorganisme prokariotik dan eukariotik diketahui memiliki kemampuan untuk mengoksidasi hidrokarbon aromatik seperti yang tercantum pada tabel 4.

Tabel 4. Daftar Mikroorganisme Pendegradasi Hidrokarbon Aromatik

Jenis Organisme	
Bakteri:	Jamur:
<i>Pseudomonas</i>	<i>Chytridomycetes</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Oomycetes</i>
<i>Moraxella</i>	<i>Zygomycota</i>
<i>Beijerinckia</i>	<i>Basidiomycota</i>
<i>Flavobacteria</i>	<i>Deuteromycota</i>
<i>Achromobacteria</i>	<i>Zygomycota</i>
<i>Nocardia</i>	<i>Miroalga:</i>
<i>Corynebacteria</i>	<i>Porphyridium</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Petalonia</i>
<i>Mycrobacteria</i>	<i>Diatoms</i>
<i>Rhodococci</i>	<i>Chlorella</i>
<i>Streptomyces</i>	<i>Dunaliella</i>
<i>Bacilli</i>	<i>Chlamydomonas</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Ulva</i>

Sumber: Cerniglia (1992; dalam Rosenberg dan Ron, 1996)

Bogan dkk, (2001; dalam Noervironinggar, 2002) menjelaskan bahwa mikroba pengoksidasi hidrokarbon polisiklik aromatik dengan

jumlah cincin antara 3 sampai 5 dapat berasal dari genus *Bukholderia*, *Pseudomonas*, dan *Sphingomonas*.

Pengaruh kontaminasi hidrokarbon petroleum terhadap populasi mikroba di tanah sangat tergantung pada tipe, besarnya konsentrasi, lamanya kontaminasi berlangsung, dan juga kondisi lingkungan. Tidak seperti halnya pada air permukaan maupun air tanah dimana efek kontaminan dapat tersebut melalui dilusi dan migrasi, maka sebagian besar kontaminan di tanah yang tidak jenuh akan tetap terlokalisasi dan mempengaruhi mikroba *indigenous* dapat menjadi jenis yang paling sesuai untuk proyek bioremediasi. Setelah beberapa waktu dari terjadinya tumpahan, pemaparan kontaminan terhadap mikroorganisme *indigenous* menghasilkan preseleksi jenis-jenis mikroorganisme yang paling efisien untuk bioremediasi tanah.

Proses preseleksi terjadi karena masing-masing mikroorganisme memiliki alur metabolisme dan enzim spesifik untuk menghasilkan energi yang berasal dari perombakan hidrokarbon petroleum. Waktu yang dibutuhkan untuk proses mempercepat pemilihan mikroorganisme pendegradasi yang sesuai untuk program bioremediasi tanah yang terkontaminasi tumpahan hidrokarbon petroleum perlu dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

- Analisa (konsentrasi kontaminan nilai pH kandungan nutrisi densitas mikroorganisme dan sebagiannya beberapa sampel tanah dari lokasi terjadinya tumpahan).
- Studi pendahuluan bioremediasi yang bertujuan mengetahui pengolahan bioremediasi yang sesuai untuk diterapkan ke lapangan. Studi dilakukan dengan memberikan variasi stimulasi

aktivitas biodegradasi seperti menambahkan nutrisi dengan rasio yang berbeda, penetralan nilai pH tanah, pengaturan kelembaban tanah, penambahan bulking agent, dan lain-lain.

- Selanjutnya dilakukan isolasi terhadap mikroorganisme yang berasal dari variasi pengolahan bioremediasi yang memberikan respon biodegradasi paling efisien dengan penyusutan hidrokarbon terbesar. Hasil isolasi tersebut kemudian diperbanyak jumlah selnya dan kemudian diinokulasikan ke lahan pengolahan bioremediasi.

2.4.2. Faktor Berpengaruh Proses Biodegradasi

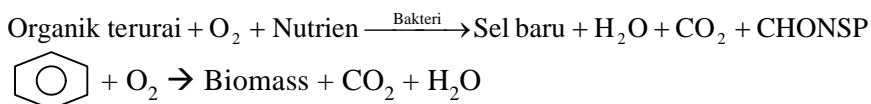
Keberhasilan proses bioremediasi ditentukan oleh keberhasilan untuk mengoptimalkan kondisi lingkungan yang sesuai dengan aktivitas mikroba perombak. Kondisi lingkungan yang dimaksud adalah:

1. Oksigen

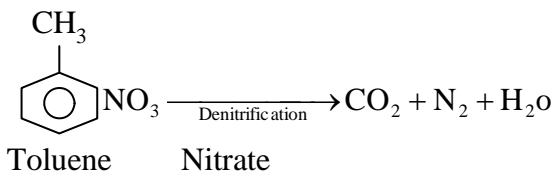
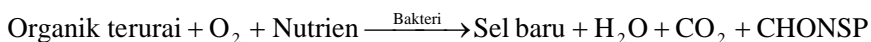
Dalam proses bioremediasi aerobik, oksigen berperan sebagai akseptor elektron yang akan menampung kelebihan elektron dari reaktan lainnya. Oksigen dalam tanah diperoleh dari proses difusi antara udara dengan tanah. Oksigen ini mudah habis terutama jika jumlah mikroorganisme yang memanfaatkannya sangat banyak sedangkan proses difusi tersebut membutuhkan waktu yang lama. Dan laju biodegradasi akan menurun bila kandungan oksigen berkurang (Green dan Trett, 1989 dalam Andriany, 2001). Namun kebutuhan akan oksigen dapat disuplai melalui pengadukan atau pembalikan secara berkala.

Untuk reaksi penguraian secara aerobik, kebutuhan oksigen optimum adalah lebih besar dari 0,2 mg/L DO dengan porositas minimal 10%. Sedangkan untuk reaksi anaerobik kebutuhannya akan oksigen kurang dari 0,2 mg/L dan porositas kurang dari 1% (Indarto, 1999). Pembalikan tersebut dimaksudkan juga untuk menjaga suhu tumpukan tetap ideal dan menciptakan homogenitas campuran.

Secara umum reaksi penguraian mikrobiologis secara aerobik dapat digambarkan melalui reaksi di bawah ini:



Tanpa kehadiran oksigen bebas (O_2) maka reaksi penguraian akan berlangsung secara anaerobik. Degradasi hidrokarbon terjadi akibat kegiatan mikroorganisme mesofil dan termofil. Mikroba memanfaatkan senyawa lain yang mengandung atom oksigen misalnya sulfat (SO_2) dan nitrat (NO_3) untuk menggantikan O_2 sebagai penerima elektorn. Reaksi anaerobik tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



2. Kelembaban

Kelembaban yang optimum untuk bioremediasi tanah adalah sekitar 80% kapasitas lapang atau 15% air dari berat (English, 1991; dalam

Cookson, 1995) kelembaban yang tidak mencukupi misalnya kurang dari 40%, dapat mengurangi laju bioremediasi. Sedangkan bioremediasi bahan bakar minyak dan sejenisnya, membutuhkan kelembaban sekitar 50%. Kelembaban tanah di atas 70% dapat mengganggu transfer gas untuk oksigen sehingga mengurangi aktivitas aerobik (Cookson, 1990 dalam Cookson, 1995).

3. Nilai pH

Nilai pH lingkungan yang tercemar juga berpengaruh terhadap kemampuan mikroorganisme baik untuk menjalankan fungsi selular, transpor membran sel maupun keseimbangan reaksi yang dilakukan oleh mikroorganisme. Sebagian besar bakteri tumbuh dengan baik pada pH netral hingga pH alkali. Pertumbuhan mikroba tidak berlangsung dengan baik pada pH di bawah 5. Sedangkan degradasi senyawa hidrokarbon diketahui berlangsung lebih cepat pada pH di atas 7 jika dibandingkan dengan degradasi sama pada pH = 5 (Brodkorb, 1992 dalam Cookson, 1995).

4. Temperatur

Billingsley dan Scheider (1990 dalam Indarto 1999), menyebutkan bahwa temperatur yang optimum untuk biodegradasi adalah 10 °C – 40 °C. Persamaan yang umum digunakan untuk memperkirakan perubahan laju degradasi terhadap temperatur adalah

$$k_2 = k_1 \cdot \theta (T_2 - T_1)$$

Dimana:

k_1 = orde pertama laju degradasi pada temperatur T_1 , °C

k_2 = orde pertama laju degradasi pada temperatur T_2 , °C

θ = koefisien temperatur

Untuk degradasi hidrokarbon pada tanah yang terkontaminasi, nilai θ sama dengan 1,088 yang telah diukur secara eksperimen pada temperatur dengan kisaran 15 – 42 °C (Troy, 1993 dalam Cookson, 1995).

5. Nutrien

Nutrien dalam tanah harus tersedia dalam jumlah yang sesuai, sehingga dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme pendegradasi. Sumber karbon berasal dari substrat yaitu zat kontaminan, sedangkan nitrogen dan fosfor dapat ditemukan pada tanah dan air tanah. Pada lahan terkontaminasi jumlah keduanya bisa jadi sangat rendah. Apabila konsentrasi nutrisi yang tersedia tidak mencukupi maka perlu ditambahkan pupuk. Hal ini dilakukan untuk mempertinggi laju metabolisme substrat. Respon yang diberikan oleh masing-masing lahan yang terkontaminasi sangat bervariasi. Menurut Bossert dan Compeau (1995) pada hampir semua kasus, respon yang diberikan terhadap penambahan pupuk dapat langsung terjadi. Namun ada pula yang tidak menunjukkan respon sama sekali. Hal ini mungkin disebabkan karena jumlah nutrisi yang ada sesungguhnya sudah mencukupi kebutuhan atau adanya fiksasi nitrogen oleh mikroorganisme dan atau karena sifat heterogenitas tanah. Menurut Cookson (1995), penambahan pupuk inorganik seringkali menguntungkan bagi bioremediasi fase solid. Penambahan tersebut umumnya dengan perbandingan antara hidrokarbon:nitrogen:fosfor = 100:10:1. Sedangkan Rosenberg dkk.

(1992) menyebutkan bahwa dibutuhkan ± 150 mg nitrogen dan 30 mg fosfor untuk mengubah 1 gr hidrokarbon menjadi bahan-bahan sel. Bentuk kimiawi pupuk nitrogen dan fosfor yang ditambahkan juga mempengaruhi biodegradasi kontaminan hidrokarbon. Nutrien fosfor yang umumnya ditambahkan sebagai garam fosfat, dengan mudah membentuk suatu kompleks dengan mineral tanah, membentuk produk yang tidak larut, dan kemudian mengendap.

Penggunaan fosfor dalam bentuk tripolifosfat tidak disukai karena dapat menghasilkan endapan yang tidak diinginkan dan dapat mengganggu struktur tanah (Bossert dan Compeau, 1995). Mc Millen (1998) menyatakan bahwa kebutuhan nitrogen untuk bakteri agar dapat melakukan metabolismenya dengan baik adalah sebesar 50 mg/kg tanah. Pada penambahan pupuk nitrogen, bentuk yang sering digunakan adalah Urea, Ammonia, dan/atau nitrat. Menurut Bossert dan Compeau (1995) berdasarkan studi di laboratorium dengan menggunakan bahan inti tanah yang terkontaminasi solar, dimana tiga diantara seluruh jenis pupuk nitrogen tersebut terbukti dapat meningkatkan laju mineralisasi hidrokarbon. Penambahan urea mengakibatkan terjadinya peningkatan laju mineralisasi 35% lebih besar dibandingkan pupuk NH_4NO_3 .

2.4.3. Kelebihan dan Kekurangan Proses Bioremediasi

Proses bioremediasi memiliki beberapa nilai lebih dibanding dengan teknik pengolahan tanah tercemar hidrokarbon yang

menggunakan proses kimia maupun fisika. Keuntungan dari proses bioremediasi adalah:

- Dapat membersihkan pencemar hidrokarbon secara permanen, sementara metoda lain umumnya hanya memindahkan pencemar dari satu media ke media lainnya.
- Dapat dilakukan di lokasi tanah tercemar (in-situ)
- Proses berjalan secara alamiah dengan mengandalkan elemen-elemen reaksi yang sudah ada atau mudah diperoleh di alam bebas.
- Ramah lingkungan karena tanah yang sudah umumnya dapat digunakan kembali.
- Relatif lebih murah

Di samping keuntungan ada juga kerugian dari penerapan bioremediasi ini. Kerugian bioremediasi tersebut diantaranya adalah:

- Hasilnya sulit diramalkan mengingat banyaknya mekanisme interaksi pencemar hidrokarbon dengan tanah.
- Proses berjalan lambat sehingga proyek bioremediasi umumnya berlangsung lama.
- Hanya dapat dilakukan terhadap pencemar yang biodegradable.
- Sulitnya menciptakan kondisi ideal yang dibutuhkan suatu reaksi biodegradasi di dalam tanah.

2.5. Keberadaan Pencemar Minyak

Tanah adalah materi heterogen yang tersusun atas bahan inorganik dan organik, gas serta zat cair (paul dan Clark, 1989 dalam Baker dan Herson, 1994). Pencemar minyak yang tumpah di

permukaan tanah akan masuk ke dalam tanah dan sebagian ada yang meninggalkan tanah. Pencemar yang terlepas dan terserap ke tanah (adsorpsi) akan mengalami perubahan secara fisik, kimia maupun biologi. Pencemar akan tersebut dalam wujud gas, terlarut dalam air, atau bergabung dengan partikel tanah.

2.6. Total Petroleum Hidrokarbon (TPH)

Total Petroleum Hidrokarbon (TPH) merupakan pengukuran konsentrasi pencemar hidrokarbon minyak dalam tanah atau berat seluruh pencemar hidrokarbon minyak dalam suatu sampel tanah yang sering dinyatakan dalam satuan mg hidrokarbon/kg tanah. Metode ini terdiri atas 2 tahap, yaitu:

- a. Tahap ekstraksi : yang akan memisahkan senyawa minyak dari sampel air atau tanah
- b. Tahap kuantifikasi : dengan metode gravimetri atau peralatan Gas Chromatography (GC) atau Infra Red (IR) analyzer.

Dalam evaluasi tipe hidrokarbon dalam sampel, hasil analisa dibandingkan dengan standard kromatogram. Standard tersebut meliputi standard minyak gas (fraksi ringan), standard diesel/solar (fraksi sedang), dan standard oli motor (fraksi berat). Berdasarkan standard tersebut, hidrokarbon yang terkandung dalam minyak gas diperkirakan terdiri dari nC4 hingga nC10; dalam solar diperkirakan antara nC9 hingga nC21; dan dalam oli motor diperkirakan nC21 hingga nC29 (Senn, 1995 dalam Kostecki, 1992).

2.7. Penentuan Kriteria

Dalam menentukan tindakan yang akan diambil dalam bioremediasi diperlukan penentuan beberapa batasan kriteria teknis maupun nonteknis. Batasan tersebut meliputi:

- a. Sasaran pembersihan lahan (clean-up level) yaitu konsentrasi yang harus dicapai dalam proses bioremediasi.
- b. Batasan waktu pelaksanaan yang ditentukan berdasarkan pengalaman proyek bioremediasi sebelumnya.
- c. Batasan biaya yang akan sangat mempengaruhi pemilihan teknik bioremediasi.

Sasaran atau tujuan umum remediasi adalah melindungi lingkungan dan kesehatan masyarakat. Sedangkan secara spesifik bertujuan menurunkan tingkat pencemaran ketinggian yang lebih bersih dan aman bagi lingkungan dan kesehatan masyarakat. Dalam menentukan sasaran remediasi terdapat 4 pendekatan yang dapat digunakan, yaitu:

- a. Pendekatan peraturan; yang mengacu pada PP No. 85/1999 tentang Pengolahan Limbah Bahan Beracun dan Berbahaya (B3) yang menyebutkan bahwa "limbah minyak termasuk limbah B3" sehingga diolah tidak boleh dibuang di tanah atau landfill yang tak terlindungi.
- b. Pendekatan pendugaan resiko kesehatan dan lingkungan ; yaitu menentukan tingkat resiko yang dapat diterima setelah pengkajian

beberapa studi kasus meliputi paparan, reseptor, dan media penyebarannya.

- c. Pendekatan pemulihan kondisi awal ; yaitu mengembalikan kondisi tanah sampai ke kondisi sebelum terjadi pencemaran.
- d. Pendekatan teknologi ; yaitu penurunan bahan pencemar sampai ke tingkat yang dapat dicapai oleh teknologi yang digunakan.

2.8. Teknik Proses Bioremediasi

Hampir semua jenis hidrokarbon dalam senyawa minyak dapat terurai dengan baik oleh mikroba aerobik. Saat ini ada beberapa teknik bioremediasi aerobik yang mampu menurunkan kadar pencemaran hidrokarbon minyak, yaitu:

- a. Bioremediasi in-situ; dimana pencemar dan media tencemarnya tetap berada pada tempat aslinya saat dilaksanakan proses bioremediasi.
- b. Bioremediasi ex-situ; dimana pemcemar dan media tercemarnya dipindahkan dari tempat aslinya ke tempat lain dimana proses bioremediasi dapat dilakukan.

Sedangkan berdasarkan metode pengkayaannya, ada dua teknik bioremediasi yaitu:

- a. Bioremediasi Augmentasi (Biougmentation); dimana bioremediasi dilaksanakan dengan menggunakan mikroba khusus yang didatangkan dari tempat lain dan umumnya disertai dengan penambahan enzim.

- b. Bioremediasi Simulasi (Biostimulation); dimana bioremediasi dilakukan dengan mengandalkan mikroba asli tanah yang distimulasi metabolismenya.

Dalam menentukan teknik bioremediasi yang tepat, ada beberapa hal penting yang harus dipertimbangkan. Faktor-faktor tersebut meliputi:

1. Lokasi pencemar; yaitu letak relatif pencemar dan media tercemar terhadap muka tanah.
2. Wujud pencemar; misalnya kecenderungan untuk menguap ataupun melarut dari zat pencemar.
3. Biodegradabilitas pencemar; yaitu kemudahan pencemar untuk didegradasi oleh mikroba asli daerah tersebut.
4. Potensi migrasi pencemar; yaitu pergerakan atau perpindahan pencemar dari tempat aslinya.

Selain itu, pemilihan teknik bioremediasi juga ditentukan oleh peluang kemudahan kerja yang ada, meliputi:

1. Kemudahan akses pencemar; yaitu kemudahan terjangkaunya pencemar oleh nutrien, oksigen, dan bahan suplemen lainnya yang akan ditambahkan untuk mempercepat reaksi biodegradasi.
2. Kemungkinan relokasi pencemar; yaitu kemudahan dalam memindahkan pencemar dan medianya dari lokasi asli serta ketersediaan lahan.
3. Ketersediaan sumberdaya lainnya; seperti berat, petugas, dan listrik.

2.9. Sistem Landfarming

Landfarming yang disebut juga sebagai *land treatment* atau *land application*, merupakan teknik bioremediasi yang dilaksanakan di permukaan tanah baik secara *in-situ* maupun *ex-situ*. Teknik ini merupakan metode bioremediasi yang paling awal dan sederhana serta sangat umum diterapkan dalam meremediasi tanah tercemar minyak. Peralatan yang dibutuhkan sama dengan peralatan dalam pembajakan lahan pertanian. Landfarming sesuai untuk kondisi:

- a. Tanah tercemar yang memiliki hydraulic conductivity sedang seperti lanau (loam) atau lanau lempung (loam clay).
- b. Pencemar yang memiliki vapor pressure rendah hingga menengah seperti solar, minyak tanah, minyak pelumas, lumpur minyak, dan lumpur bor.
- c. Workability, dimana relokasi tanah dimungkinkan untuk aplikasi *ex-situ*.
- d. Waktu pelaksanaan dan modal yang memadai serta kondisi cuaca yang mendukung.

2.9.1. Reaktor Ex-Situ

Reaktor *ex-situ landfarming* terdiri dari:

1. Lahan paparan tanah (LPT) atau *land treatment units* (LTUs); yaitu tempat tanah tercemar digelar, dengan ketinggian tiap lapisan antara 15 cm sampai 50 cm.
2. Sarana pengendali *run-off*, untuk mencegah masuknya air limpasan (surface run-off) masuk ke dalam lahan serta mencegah

mengalirnya air tercemar ke luar lahan. Umumnya berupa tanggul tanah yang rapat mengelilingi LPT.

3. Sarana pengendalian *leachate*; untuk mengumpulkan air lindi (*leachate*) dari dasar lahan dan mengembalikannya ke lokasi LPT. Dasar lahan *ex-situ landfarming* harus memiliki lapisan kedap yang mencegah masuknya *leachate* ke dalam lapisan tanah di bawahnya atau masuknya air tanah ke dalam paparan tanah tercemar. Lapisan kedap sebaiknya terbuat dari bahan geomembran *High Density Poly-Ethylene* (HDPE) dengan ketebalan minimal 0,75 mm atau menggunakan tanah lempung (tanah dengan kandungan clay > 70%) setebal 50 cm yang dipadatkan.

2.9.2. Operasi *Landfarming*

Dalam penerapannya, operasi bioremediasi *landfarming* terdiri dari:

a. Operasi Tanah

Setelah diambil dari tempat aslinya, tanah digelar di lokasi landfarm. Penggelaran tanah dilakukan secara berlapis dengan ketinggian 30 cm sampai 50 cm untuk lapisan pertama. Penyesuaian diri mikroba terhadap makanannya terjadi pada lapisan pertama dan lapisan selanjutnya memanfaatkan konsorium mikroba dari lapisan pertama. Lapisan kedua dan berikutnya digelar dengan ketebalan gembur antara 15 cm sampai 30 cm dan diatur membentuk gundukan memanjang yang paralel (*windrows*) untuk mengurangi pengaruh erosi angin. Penggelaran dihentikan saat timbunan tanah mencapai ketebalan maksimum 80 cm.

b. Aerasi

Aerasi dimaksudkan untuk mencapai suplai udara yang cukup serta homogenitas semua elemen reaksi yang ada. Aerasi dilakukan dengan metode pembajakan (*tilling*) dengan peralatan seperti traktor pembajak atau alat pembajak lain yang biasa digunakan di lahan pertanian. Pembajakan dilakukan secara periodik minimal 14 hari sekali, namun harus dihentikan saat hujan datang minimal 2×24 jam guna menghindari jenuhnya pori tanah oleh air.

c. Penambahan Air

Air dapat disemprotkan langsung ke permukaan tanah tercemar. Kelembaban tanah harus dijaga antara 12% sampai 30% berat tanah atau 30% sampai 80% kapasitas ladang.

d. Penambahan Nutrien

Penambahan nutrien dapat menggunakan urea, NPK, dan lainnya hingga jumlah N dan P mampu menunjang reaksi biodegradasi pencemar minyak. Dalam proses bioremediasi tanah tercemar hidrokarbon, kompos berperan sebagai media pengaya tanah yang akan merangsang pertumbuhan mikroorganisme tanah. Kompos memiliki kandungan Nitrogen (N) dan Fosfor (P) dalam jumlah besar yang sangat diperlukan oleh mikroorganisme tanah bagi pertumbuhan dan proses metabolismenya. (Indarto, 1999)

e. Penciptaan Kondisi Ideal

Kondisi pH, *hydraulic conductivity* lapisan tanah dan suhu yang ideal juga perlu dijaga. Penambahan asam ataupun basa perlu dilakukan bila pH tanah jauh dari kondisi netral ($5 < \text{pH} < 8$). Media penyangga perlu ditambahkan (maksimal 30% volume tanah) bila

lapisan tanah terlalu banyak mengandung clay sehingga *hydraulic conductivity* dan porositas tanah dapat meningkat.

2.9.3. Bulking Agent

Penambahan bulking agent atau agen penyangga dapat mencegah pemadatan tanah dan meningkatkan porositas tanah serta suplai oksigen. Peningkatan porositas seringkali diikuti dengan menurunnya kadar kelembaban tanah sehingga diperlukan agen penyangga untuk mempertahankannya selama proses biodegradasi berlangsung (Savage et al., 1985 dalam Eweis, 1998). Jenis agen penyangga yang dapat digunakan antara lain rumput kering, Woodchips dan jerami.

2.9.4. Kondisi Iklim

Sisitem *lanfarming* bersifat terbuka, sehingga kinerjanya dipengaruhi juga oleh faktor iklim meliputi curah hujan, suhu, dan angin. Air hujan yang jatuh secara langsung maupun run-off di lahan landfarm selain meningkatkan kelembaban tanah juga menyebabkan erosi. Kadar kelembaban tanah mempengaruhi efektivitas kerja bakteri.

Jika lokasi *landfarm* memiliki curah hujan tinggi (> 30 inches), maka dibutuhkan pelindung hujan seperti terpal, plastik, atau struktur *greenhouse*. Dalam hal ini, *run-off* maupun *run-on* dari air hujan harus dikontrol dengan menggunakan tanggul yang dibuat di sekeliling *landfarm*.

Sistem pengumpulan *leachate* di dasar landfarm dan sistem pengolahan *leachate* juga diperlukan untuk mencegah terjadinya pencemaran air tanah. Erosi landfarm juga dapat terjadi selama musim angin. Erosi akibat angin berupa terseretnya tanah digundukan (rows) dan berkurangnya kelembaban tanah.

2.9.5. Kerugian dan Keuntungan Landfarming

Dalam bioremediasi ex-situ sebenarnya ada beberapa teknik diantaranya landfarming, biopiling, dan soil slurry bioreactor. Setiap teknik memiliki kelebihan dan kekurangan. Keuntungan yang dapat diperoleh dari landfarming, antara lain:

- a. Mudah dalam desain dan pengoperasiannya.
- b. Tingkat reduksi TPH mampu mencapai 90%. Dari suatu penelitian dilaporkan bahwa dalam waktu 77 hari, 42 mg/kg dari 2,4 dichlorophenoxyacetic acid berhasil direduksi hingga menjadi 4 mg/kg (Fiorenza et al., 1991 dalam Cookson, 1995).
- c. Waktu pengolahan yang dibutuhkan cukup singkat (biasanya 3 bulan sampai 2 tahun dalam kondisi optimal).
- d. Biaya operasi tidak terlalu tinggi karena tidak mengkonsumsi listrik.

Sedangkan kerugian dari sistem landfarming antara lain:

- a. Konsentrasi senyawa kimia di bawah 0,1 mg/kg sangat sulit dicapai
- b. Tidak efektif untuk mengolah lahan tercemar dengan konsentrasi TPH di atas 50.000 mg/kg
- c. Kurang tepat bagi pencemar yang mudah menguap seperti bensin.
- d. Membutuhkan lahan yang luas dan biaya investasi yang besar.
- e. Dipengaruhi oleh cuaca. Hujan dapat menjadi faktor penghambat

III IMPLEMENTASI

3.1 Kandungan C, N dan P pada Tanah

Analisa kandungan C, N dan P pada variasi media tanah dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Analisa kandungan C, N dan P yang dilakukan pada awal penelitian bertujuan untuk mengetahui perbandingan komposisi C, N dan P pada media tanah.

Komposisi ini diharapkan sesuai dengan ratio C/N/P yang diinginkan yaitu 100/10/1, jika tidak maka ditambahkan pupuk NPK. Hasil analisis kandungan C, N dan P pada awal penelitian dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Analisa Awal Kandungan C, N dan P

Unsur	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
C (%)	4,48	4,96	4,62	5,06
N (%)	0,10	0,10	0,10	0,11
P (%)	0,0145	0,0167	0,00838	0,01253

Berdasarkan tabel diatas perbandingan komposisi C/N/P tidak sesuai dengan perbandingan yang diinginkan yaitu 100/10/1, oleh karena itu variasi komposisi media ditambah pupuk NPK.

Perhitungan penambahan unsur N dan P dapat dilihat pada lampiran D. Setelah ditambahkan dengan pupuk NPK kandungan C, N dan P dapat dilihat pada tabel 6

Tabel 6. Kandungan C, N dan P pada Reaktor setelah Ditambah Pupuk NPK

Unsur	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
C (ppm)	4480	4960	4620	5060
N (ppm)	448	496	462	506
P (ppm)	44,8	49,6	46,2	50,6

Analisa terhadap kandungan N dan P pada hari ke-25 penelitian bertujuan untuk mengetahui kandungan kedua unsur tersebut dan kemudian kemungkinannya untuk dilakukan penambahan nutrisi. Jika kandungan N dan P di dalam Reaktor berkurang maka dapat dipastikan bahwa di dalam Reaktor terdapat aktivitas mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon. Pada pengukuran pertengahan ini hanya dilakukan pada unsur N dan P saja. Dan unsur C tidak lagi karena secara otomatis unsur tersebut akan berkurang seiring dengan pendegradasinya senyawa hidrokarbon dalam Reaktor.

Pengukuran kandungan N dan P pada hari ke-25 penelitian dilakukan untuk seluruh Reaktor. Karena pemakaian unsur N dan P oleh mikroorganisme pada setiap Reaktor berbeda-beda. Kandungan

unsur N dan P diperkirakan habis ataupun berkurang dalam waktu 25 hari, oleh karena itu pada hari ke 25 dilakukan pemeriksaan terhadap kandungan N dan P. Hasil analisa kandungan N dan P pada hari ke 25 dapat dilihat pada tabel 7

Tabel 7 . Kandungan N dan P pada Reaktor setelah Hari Ke-25

Unsur	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
N (ppm)	100,345	125,45	112,143	175,627
P (ppm)	12,125	16,354	14,002	19,71

Setelah dilakukan analisa kandungan N dan P yang menunjukkan penurunan kandungan N dan P ini dapat membuktikan bahwa dalam Reaktor terjadi aktivitas mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon. Penurunan kandungan unsur N lebih besar dari pada penurunan kandungan unsur P karena pada dasarnya kebutuhan mikroorganisme akan unsur N lebih besar dari pada unsur P. Hal ini dikarenakan unsur N merupakan salah satu dari 4 unsur pembentuk sel yang utama selain karbon, hidrogen dan oksigen dimana keempat unsur P bukan merupakan unsur yang utama dalam sel namun keberadaannya sangat diperlukan.

Penambahan N dan P tidak dilakukan karena kandungan N dan P pada reaktor diperkirakan masih dapat memenuhi kebutuhan nutrisi mikroorganisme hingga hari ke-30.

3.2. Penyisihan TPH

Penelitian terhadap kandungan TPH merupakan penelitian yang utama karena kandungan TPH dapat menggambarkan besarnya kandungan hidrokarbon yang tersisihkan.

Hasil pengukuran terhadap kandungan TPH dapat dilihat hasilnya pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Pengukuran TPH dalam (ppm)

Reaktor	Hari			
	0	10	20	30
R ₁	44.750	44.513	44.176	43.100
R ₂	35.040	31.886	28.400	26.980
R ₃	36.630	33.699	29.655	27.875
R ₄	32.460	28.560	24.276	22.333

Konsentrasi polutan pada hari ke-0 terlihat berbeda-beda namun masih dalam kisaran 5% atau 50.000 ppm.

Perbedaan konsentrasi awal kandungan TPH pada masing-masing reaktor perlu adanya suatu parameter yang dapat dengan mudah untuk membandingkan suatu Reaktor dengan yang lainnya, yaitu penyisihan (removal TPH) yang dinyatakan dalam persen.

Hasil analisis dari penyisihan (removal) TPH dapat dilihat pada tabel 9

Tabel 9. Prosentase Penyisihan TPH (%)

Reaktor	Hari			
	0	10	20	30
R ₁	0	0.523	0.756	1.075
R ₂	0	9	11	5
R ₃	0	8	12	6
R ₄	0	12	15	8

Dari data yang ada dapat disimpulkan bahwa dengan dua variasi tanah, Wood Chips dan Kompos nilai penyisihan TPH pada variasi komposisi tanah saja ini lebih kecil dibandingkan dengan variasi komposisi tanah, Wood Chips dan Kompos. Diketahui bahwa Reaktor yang mempunyai variasi komposisi tanah saja mempunyai porositas yang kecil dibanding lainnya sehingga oksigen sulit menembus media tanah di dalam Reaktor tersebut.

Pada hari ke-10 terjadi peningkatan terhadap penyisihan kandungan TPH, yaitu sebesar 10 – 15% penyisihan TPH pada variasi tanah saja kurang begitu baik hasilnya jika dibandingkan dengan variasi komposisi tanah/Wood Chips/Kompos, hal ini disebabkan oleh kurangnya suplai oksigen ke dalam media tanah yang sangat dibutuhkan mikroorganisme pengurai hidrokarbon.

Pada hari ke-20 peningkatan penyisihan TPH hingga mencapai 20 – 27%, peningkatan yang signifikan ini dicapai karena mikroorganisme di dalam Reaktor mulai terbiasa dengan keadaan

lingkungannya yang baru yaitu populasi mikroorganisme yang banyak dengan oksigen yang terbatas. Namun pada keadaan ini mikroorganisme dapat bertahan karena mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon bukan merupakan mikroorganisme aerobik obligat.

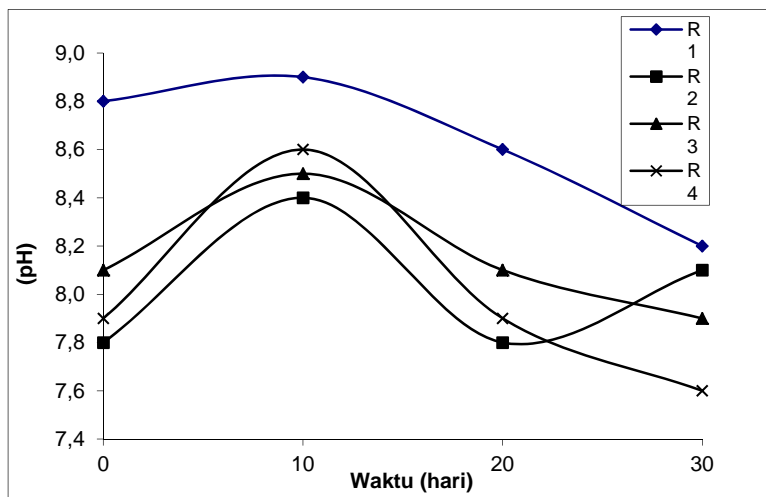
Pada pengamatan hari ke-30, penyisihan (removal) TPH mencapai 35%. Kenaikan persentase penyisihan TPH terlihat sedikit sekali dibandingkan dengan persentase kenaikan pada hari pengamatan sebelumnya (hari ke-20). Hal ini berkaitan dengan ketersediaan nutrisi yang terdapat di dalam Reaktor. Nutrien N dan P di dalam Reaktor terlihat sudah sangat berkurang. Hal ini menghalangi mikroorganisme dalam melakukan metabolisme dengan baik. Habisnya nutrisi di dalam Reaktor dimungkinkan karena nutrisi tersebut banyak terpakai pada saat mikroba menjalani tahap adaptasi, karena masa adaptasi mikroorganisme di dalam penelitian ini sangat lama.

3.3. Pengaruh Terhadap Nilai PH

Pengukuran pH dapat menunjukkan pengaruh aktivitas biologis mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon terhadap pH Reaktor, hasil pengukuran pH dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Pengukuran Ph Pada Masing-Masing Reaktor

Reaktor	Hari			
	0	10	20	30
R ₁	8,8	8,9	8,6	8,2
R ₂	7,8	8,4	7,8	8,1
R ₃	8,1	8,5	8,1	7,9
R ₄	7,9	8,6	7,9	7,6

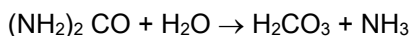


Gambar 4. Pengukuran pH pada Reaktor

Berdasarkan Gambar 4 pengukuran pH, proses biodegradasi berjalan pada pH sedikit basa. Hal ini sesuai dengan rentang pH yang baik bagi mikroorganisme pengurai hidrokarbon, yaitu pada kisaran pH netral sampai agak sedikit basa.

Bukti bahwa Reaktor bersuasana basa dikuatkan dengan adanya bau amoniak yang tercium pada hari pertama pada tiap Reaktor. Bau amoniak yang sangat menyengat pada hari ke-10, mengakibatkan nilai pH dihari itu naik sampai mendekat 9, kemudian secara berangsur-angsur bau menyengat tersebut menghilang seiring dengan menurunnya pH di hari ke-20.

Reaksi yang mengindikasikan adanya bau amoniak adalah sebagai berikut:



Mulai hari ke-20 sampai hari ke-30 pH Reaktor semakin menurun diperkirakan akibat terbiodegradasinya rantai alkana. Sebab rantai alkana merupakan rantai yang dominan dan yang paling mudah untuk dibiodegradasi pada proses biodegradasi rantai alkana, senyawa alkana dibiodegradasi menjadi senyawa alkohol, kemudian menjadi aldehid dan dibiodegradasi menjadi senyawa asam karbosilat yang kesemuanya bersifat asam, sehingga lambat laun pH di dalam reaktor akan turun seiring dengan terbiodegradasinya rantai alkana.

Penurunan pH yang cenderung mendalami penurunan hingga hari ke-30 juga diakibatkan diakibatkan terbentuknya alkohol yang bersifat asam. Pembentukan senyawa alkohol dikuatkan dengan terdeteksinya senyawa alkohol pada analisis IR. Berdasarkan keterangan ini dapat diketahui bahwa senyawa yang selama ini diuraikan oleh MO (mikroorganisme) pengurai hidrokarbon adalah senyawa alifatik.

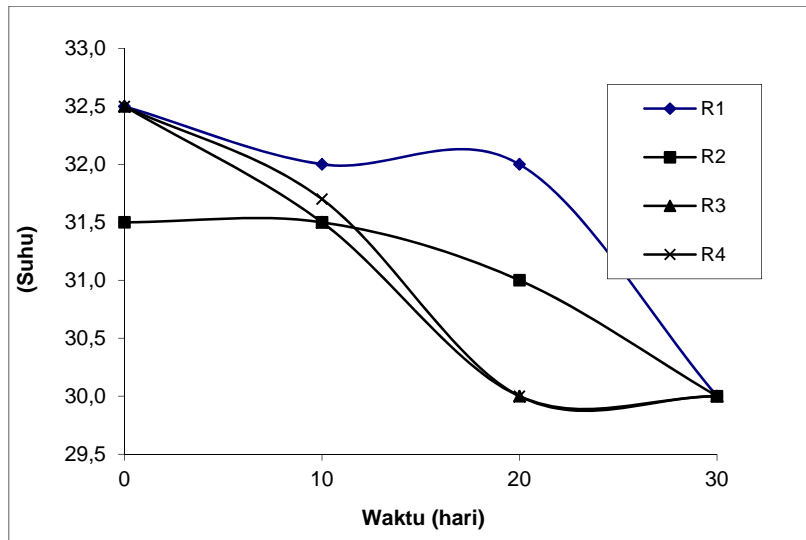
3.4. Pengaruh Terhadap Temperatur

Pengamatan terhadap temperatur merupakan pengamatan yang dilakukan untuk menunjang data yang didapat selama penelitian berlangsung. Hasil pengamatan terhadap temperatur pada masing-masing Reaktor dapat dilihat pada tabel 11

Tabel 11. Hasil Pengamatan Terhadap Temperatur

Reaktor	Hari			
	0	10	20	30
R ₁	32,5 °C	32 °C	32 °C	30 °C
R ₂	31,5 °C	31,5 °C	31 °C	30 °C
R ₃	32,5 °C	31,5 °C	30 °C	30 °C
R ₄	32,5 °C	31,7 °C	30 °C	30 °C

Temperatur merupakan data penunjang yang perlu diketahui pada saat melakukan penelitian, hal ini dilakukan agar suhu lingkungan pada saat itu dapat diketahui. Hasil analisis pengukuran temperatur (suhu) dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Pengukuran Suhu pada Reaktor

Berdasarkan data hasil penelitian di laboratorium, keadaan temperatur di dalam Reaktor yang relatif stabil pada kisaran suhu mesofilik antara 25°C dan 40 °C. Temperatur di dalam Reaktor sudah sesuai dengan temperatur yang diinginkan di dalam proses biodegradasi. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Baker dan Heson (1994) bahwa mayoritas proyek pemulihan lahan yang dilakukan secara biologis berada di dalam kondisi mesofilik.

Kecenderungan yang terjadi pada masing-masing Reaktor adalah menurunnya suhu pada hari ke-20 sampai akhir penelitian dikarenakan aktifitas mikroorganisme rendah sehingga suhu pada masing-masing Reaktor turun, rendahnya aktifitas mikroorganisme disebabkan nutrisi pada reaktor rendah.

3.5. Pengaruh Terhadap Kadar Air

Hasil penelitian terhadap kandungan air yang terdapat di dalam Reaktor merupakan data penunjang hasil penelitian ini, hal ini disebabkan karena penelitian kadar air ini berfungsi untuk mengetahui kandungan air pada Reaktor. Jika nilainya berada di bawah 40% maka, menurut Cookson (1995), proses bioremediasi akan berjalan lambat atau terganggu. Hasil penelitian terhadap kadar air di dalam Reaktor disajikan dalam tabel 12

Tabel 12. Hasil Analisa Kadar Air (%)

Reaktor	Hari			
	0	10	20	30
R ₁	49,8	42,7	37,6	43
R ₂	50,6	43	39	42
R ₃	50,9	43,8	36,5	44
R ₄	47,9	40	33,7	45

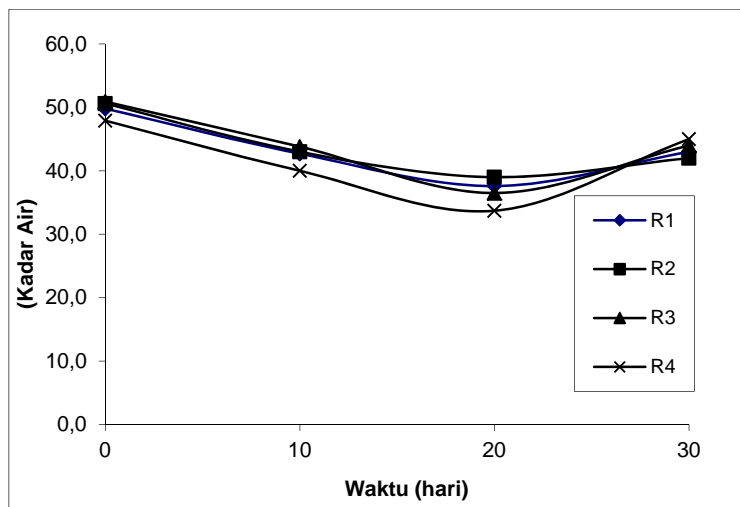
Hasil pemeriksaan terhadap kadar air di dalam Reaktor relatif stabil sesuai yang diinginkan. Namun pada hari ke-20 terjadi penurunan. Penyebab dari berkurangnya kadar air ini salah satunya adalah akibat penyerapan H₂O oleh Mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon.

Mikroorganisme dalam melakukan metabolisme memerlukan H₂O sebagai pereaksi. Selain hilangnya itu hilangnya

kadar air di dalam Reaktor juga disebabkan karena penguapan. Sedangkan kemungkinan yang ada air terperangkap dalam pori-pori tanah, hal ini terjadi karena partikel tanah lebih mudah berikatan dengan air dibandingkan berikatan dengan minyak (afinitas tanah – air lebih tinggi daripada afinitas tanah – minyak). Sehingga minyak yang menutupi permukaan partikel tanah menghalangi proses penguapan air.

Pemeriksaan kadar air pada hari terakhir (hari ke-30) dilakukan penambahan Aquadest pada masing-masing Reaktor sehingga kadar air pada masing-masing Reaktor mengalami kenaikan sampai beberapa persen. Sehingga kadar air dalam reaktor sudah sesuai dengan kadar air yang diinginkan yaitu antara 40 sampai 50%.

Hasil analisis kadar air (kelembaban) dapat dilihat pada gambar 6 .



Gambar 6. Pengukuran Kadar Air pada Reaktor

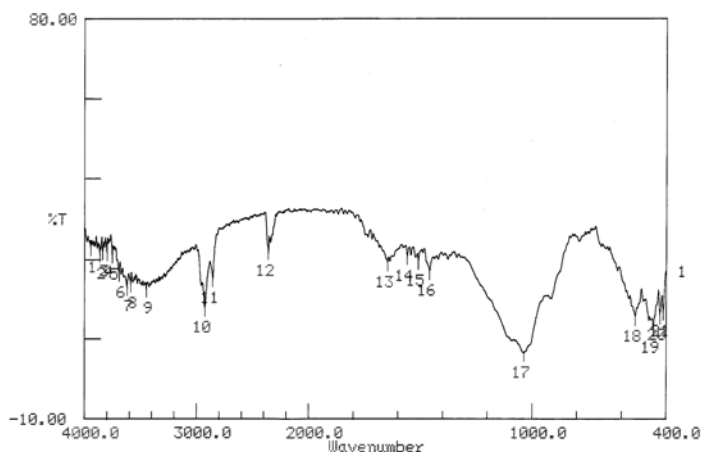
3.6. Kandungan Hidrokarbon Sebelum dan Setelah Bioremediasi

Analisis terhadap mekanisme bioremediasi rantai hidrokarbon dengan menggunakan alat Spektrometer Infra Red (IR) bertujuan untuk mengetahui secara pasti kandungan bahan kimia yang terdapat di dalam Reaktor sebelum dan sesudah proses bioremediasi.

Analisis IR hanya dilakukan pada Reaktor yang penyisihan TPH-nya paling optimum (pada R₄). Hal ini dilakukan karena pada prinsipnya kandungan bahan kimia pada masing-masing Reaktor sama, sebab jenis limbahnya juga sama, walaupun berbeda hanya terletak pada konsentrasi dan variasi Reaktor.

Hasil penelitian terhadap TPH, sementara ini menunjukkan bahwa penyisihan terbesar terjadi pada Reaktor R₄ atau pada variasi komposisi tanah 10 kg + Wood Chip 2 kg dan kompos 1 kg yaitu sebesar 35%.

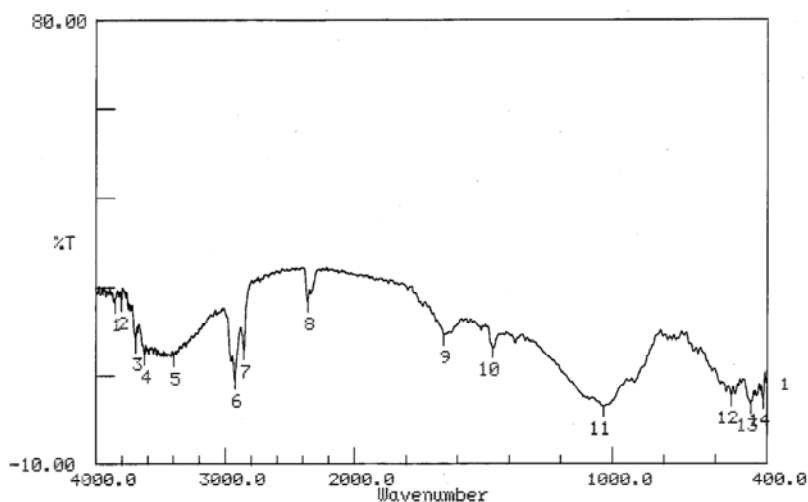
Pemeriksaan IR dilakukan di Laboratorium bersama UNAIR dengan menggunakan spektrometer Merik Fourier Transform Infra Red Spektrometer Tipe Jasco FT/IR-5300 dapat dilihat pada gambar 7 .dan 8



Gambar 7. Hasil Pemeriksaan Awal terhadap Kandungan Bahan Kimia pada Tanah dengan Menggunakan Spektrometer Infra Red.

Berdasarkan Singh, dkk (1980) dan Morrison (1986) pada gambar 4.4 Menunjukkan bahwa gugus yang dominan terdapat di dalam limbah adalah kelas alkana berikatan kuat, aromatik, ester dan alkana. Adanya gugus alkana ($> \text{CH}_2$) ini dirujuk oleh Peak (puncak) 10 (2926 cm^{-1}) yang terletak pada frekuensi (jumlah gelombang per cm) antara $2940 - 5915 \text{ cm}^{-1}$. Aromatik (ortho) ditunjukkan oleh Peak 17 ($1035,87 \text{ cm}^{-1}$) yang terletak pada frekuensi $1225 - 960 \text{ cm}^{-1}$

Kelas Ester ($-\text{CO}-\text{C}-\text{COOR}$) dirujuk oleh Peak 13 ($1647,36 \text{ cm}^{-1}$) yang terletak antara $1655 - 1635 \text{ cm}^{-1}$. Sedangkan alkuna dirujuk oleh Peak 12 ($2361,08 \text{ cm}^{-1}$) yang terletak antara $2250 - 2500 \text{ cm}^{-1}$. Sedangkan hasil pemeriksaan IR pada hari terakhir dapat dilihat pada gambar 8



Gambar 8. Hasil Pemeriksaan Akhir terhadap Kandungan Bahan Kimia pada Tanah dengan Menggunakan Spektrometer Infra Red.

Berdasarkan Fessenden dan Fessenden (1997) pada Gambar 8 telah terbentuk senyawa asam karboksilat, yaitu ditunjukkan oleh peak 5 ($3398,88 \text{ cm}^{-1}$) yang mempunyai cekungan lebar. Pada Gambar 8 tidak terlihat lagi adanya senyawa aromatik seperti Gambar 7.

Hilangnya senyawa aromatik ini dapat dikarenakan senyawa tersebut telah teroksidasi oleh mikroba. Selain itu gugus yang juga hilang dari grafik tersebut adalah gugus alkuna. Alkuna tidak lagi terdeteksi karena ikatan karbon dalam gugus alkuna tidak kuat (tidak jenuh) sehingga gugus tersebut dengan mudah diuraikan oleh mikroba pengurai hidrokarbon. Rantai alkana masih dapat terdeteksi karena senyawa ini termasuk senyawa dominan. Selain itu, rantai alkana termasuk rantai yang sulit diuraikan oleh

mikroba karena rantai alkana mempunyai ikatan tunggal yang lebih kuat dan sulit untuk diuraikan dari ikatan rangkap tiga (alkuna). Penggunaan alat IR untuk mendeteksi pola penguraian, sehingga perlu instrumen yang lebih peka (sesuai) seperti Gas Chromatografi (GC) dan Mass Spektrometri.

IV PENUTUP

Berdasarkan hasil analisis dalam pengamatan di laboratorium progd di Teknik Lingkungan UPN “veteran” Jatim selama 30 hari diperoleh hasil bahwa :

1. Ada indikasi penguraian senyawa hidrokarbon yang terlihat dengan adanya perbedaan hasil pengamatan dengan Sinar Infra Red pada awal dan akhir penelitian.
2. Komposisi media tanah yang baik di dalam pengamatan ini adalah pada perbandingan komposisi tanah 10 kg/Wood Chips 2 kg / kompos 1 kg

Hasil proses bioremediasi yang dicapai yaitu:

- Variasi tanah 10 kg tanpa penambahan apapun (R_1) = 2,354%
- Variasi tanah 10 kg/Wood Chips 2 kg/kompos 0,25 kg (R_2) = 25%
- Variasi tanah 10 kg/Wood Chips 2 kg/kompos 0,5 kg (R_3) = 26%
- Variasi tanah 10 kg/Wood Chips 2 kg/kompos 1 kg (R_4) = 35%

Pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi hidrokarbon adalah sebagai berikut:

1. Proses bioremediasi tanah yang terkontaminasi hidrokarbon dengan konsentrasi sebesar 5% (50.000 ppm) atau lebih sebaiknya dilakukan selama kurun waktu yang lama.
2. Perlu kembangkan lebih lanjut mengenai penambahan nutrisi yang optimal untuk pencemaran hidrokarbon dengan konsentrasi 5%

3. Selain dari variasi yang telah dilakukan ini perlu diteliti kembali variasi komposisi tanah yang berbeda.
4. Adanya kemungkinan pengganti Wood Chips sebagai bulking agent, namun bahan pengganti ini harus bahan yang tidak mudah teremediasi oleh mikroorganisme hidrokarbon.
5. Perlu kaji kembali mengenai variasi C/N/P dan mikroorganisme.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, A.N, (1993), Biodegradasi Minyak Pada Air Buangan Kilang Minyak Dengan Lumpur Aktif, Tugas Akhir, Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP, ITS, Surabaya.
- Andriany, D (2001), Pengaruh Dispersan Pada Biodegradasi minyak Mentah Dari Crude PT. Caltex Pasifik Indonesia. Tugas Akhir Jurusan Teknik Lingkungan FTSP – ITS Surabaya.
- Baker, K.H dan D.S, Herson (1994), Bioremediation, Mc .Graw – Hill, Inc Bossert, Ingeborg D dan Compeau, Geoffrey, C. (1995), Neanvy Of Petroleum Hydrokarbon Contamination Soil Dalam : Uly.y Young dan Carl E. Terniglia (Ed) Microbial Transformation And Degredation Of Toxix Organis Chemicals . Wiley – Liss Inc, New York.
- Cookson, J.T (1995), Bioremidition Engineering : Design dan Applcation . Mc Graw – Hill . Inc . New York.
- Douglas, G.S, Mc. Carthy, K.J, Dahlen, Seavey, J.A., Steinhaver, W.G., Prince. R.C. dan Elmen Dorf, D.L (1992), The Use of Hydrokarbon Analyses For Enviroment Assesment and Remediation. Dalam : Pault. Kosteki dan Edward.J. Cala Brese (Ed).Diesel Fuel Contamination, Lewis, Publisher, Inc. Michigan.
- Eweis, Ergas, Chans dan Schoeder (1998) Bioremediation Principles. Mc. Graw-hill, Boston.
- Indiarto, F (1999), Uji Kemampuan Biodegradasi Senyawa Hidrokarbon Dari Minyak Bumi Dengan Media Tanah di PT. Caltex Pasifik Indonesia. Tugas Akhir Jurusan Teknik Lingkungan FTSP – ITS Surabaya.

- Kostecki Paul T dan Edward. J. Cala Brese (Ed) (1992), Diesel Fuel Contamination. Lewis Publisher, Inc. Michigan.
- Leahy, J.G dan Colwell, R.R (1990), Microbial Degradation of Hydrokarbon Intene Environment Microbial Reviews.
- MC. Millen, Sara. J (1998), Lessons Leaned One 2D Biotretment / Cheuron. USA.
- MC. Millen, Sara. J (1998), Bioremediation / Potensial of Crude Oil Spill On Soil, Bettle Evess, Columbus, Ohio.
- Noervitroninggar, Muntisari (2002), Tugas Akhir : Studi Pendahuluan Bioremidiasi Acid Sludge di Area Flame Pertamina Unit Pengolahan V Balikpapan, Jurusan Teknik Lingkungan FTSP – ITS Surabaya.
- Resenberg E. Dan Ron, Eliora Z (1996), Bioremediation Of Petroleum Contamination Dalam ; Ronal L, Crawford dan Donl Crawford. Biomediation; Principle and Application. Cambrige University Press, Cambrige.
- Rosenberg, E., Legman, R., Kushmaro, A., Taube., R Adler, E., dan Ron, E.Z (1992), Petroleum Bioremediation–a multiphase Problem, Biodegradation 3 pp 337 – 350. Kluwer academic Publisher Netherland
- Pikoli, Megga Ratnasari, Pingkan, Aditiawati, Dan Dea, Astuti Andriani (2000), Isolasi Bertahap dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi Dari Sumur Bangko. Http : // www. Ip. Itb.ac.id / product / Vol 32 No. 2 / Mega. Hmtl
- Udiharto M (1992), Aktivitas Mikroba Dalam Degradasi Minyak Bumi, Lemigas, Jakarta.

LAMPIRAN

Analisa Total N

1. Timbang 0,5 gr tanah halus (lolos ayakan 0,5 mm) masukkan kedalam labu kjeldahl
2. Tambahkan 1 gr campuran selen/tablet kjeldahl dan 5 ml; H₂SO₄ pekat, di destruksi pada temperatur 300 °C
3. Setelah destruksi sempurna terjadi, lalu didinginkan dan ditambahkan 50 ml Aquadest.
4. Selanjutnya encerkan hasil destruksi dengan Aquadest hingga volume 100 ml
5. Tambahkan 20 ml NaOH 40%, segera lakukan destilasi.
6. Hasil destilasi ditampung dengan 20 ml Asam Borat penunjuk, sampai warna penampung menjadi hijau dan volumenya sekitar 50 ml.
7. Kemudian dititrasi dengan H₂SO₄ 0,01 N sampai titik akhir titrasi dan catat volume bahan penitrasi.
8. Lakukan prosedur penetapan yang sama untuk blanko.
9. Hitung hasilnya sesuai rumus berikut:

$$N_{\text{total}} (\%) = \frac{(\text{ml Sampel} - \text{ml Blanko}) \times 14 \times N_{\text{penitrasi}} \times F, K}{\text{gr Sampel}}$$

Analisa Total P

1. Timbang 5 gr tanah halus (lolos ayakan 2,0 mm) kering udara
2. Tambahkan 25 ml HCl 25%
3. Kocok selama 6 jam dengan mengocok elektrik.
4. Saring dengan kertas saring Whatman 42 dan biarkan semalam bila larutan keruh.
5. Pipet 1 ml ekstraksi tanah, tambahkan 19 ml HCl 25% dengan pipet atau buret, kemudian kocok dengan baik.
6. Pipet 5 ml ekstraksi tanah dari pengenceran (No. 5) tersebut, atau 5 ml Deret Standart atau 5 ml Blanko dimasukkan ke dalam tabung reaksi 50 ml, tambahkan 25 ml Aquadest dan 8 ml pereaksi B.
7. Kemudian tambahkan Aquadest sampai tanda batas, kocok supaya bercampur dengan baik.
8. Diamkan selama 30 menit, kemudian dibaca pada spektrometer dengan panjang gelombang 720 nM.
9. Hitung total P dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total P} = \frac{4 \times a \times 100}{(100 - \% \text{ Air})} \left(\frac{\text{gr}}{\text{gr tanah kering oven}} \right)$$

dimana:

a = ppm contoh dengan diperoleh dari kurva standart.

Analisa Total C

1. Timbang 0,5 gr contoh tanah yang telah dihaluskan ke dalam Tabung Erlenmeyer 250 ml atau 500 ml.
2. Pipet tepat 10 ml $K_2Cr_2O_7$ 1 N dan tuangkan ke dalam Labu Erlenmeyer tersebut, campur dengan menggoyang dengan hati-hati sehingga tidak terjadi butir-butir tanah menempel pada dinding labu.
3. Tambahkan 20 ml H_2SO_4 pekat dan aduk betul hingga rata, usahakan jangan terjadi penempelan butiran tanah pada dinding labu, harus terjadi kontak antara tanah dan reagent yang ditambahkan.
4. Antarkan campuran dalam labu itu selama 30 menit.
5. Kerjakan hal yang sama (butir 2 s/d 4) untuk Blanko.
6. Selanjutnya tambahkan 200 ml air suling ke dalam Labu Erlenmeyer itu.
7. Tambahkan PO_4 85% dan 0,2 gr NaF dan 30 tetes indikator difenilamine.
8. Titrasikan larutan dengan larutan baku $FeSO_4$ dari Buret, warna akan berubah dari biru gelap ke hijau terang.
9. Hitung hasilnya dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total 5(\%)} = \frac{(\text{ml Blanko} - \text{ml Contoh}) \times 3}{\text{ml Blanko} \times 0,5 \text{ gr}} \times \frac{100 + KA}{100}$$

Penambahan N Dan P dengan Pupuk Npk

Perhitungan penambahan kandungan N dan P yang menggunakan pupuk NPK bertujuan untuk memenuhi kandungan N dan P agar sesuai dengan komposisi C/N/P yang diinginkan yaitu $C/N/P = 100/10/1$

Kandungan C, N dan P mula-mula pada reaktor dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel . Kandungan C, N dan P mula-mula

Unsur	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
C (%)	4,48	4,96	4,62	5,06
N (%)	0,1	0,1	0,1	0,11
P (%)	0,0145	0,0167	0,00838	0,01253

atau

Unsur	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
C (ppm)	4480	4960	4620	5060
N (ppm)	100	100	100	110
P (ppm)	10,45	10,67	2,38	12,53

Berdasarkan tabel D.1. komposisi kandungan unsur C/N/P pada reaktor tidak sesuai dengan komposisi C/N/P yang diinginkan, oleh karena itu

ditambahkan pupuk NPK, kekurangan N dan P dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel . Kekurangan N dan P pada Reaktor

Unsur	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
N (ppm)	348	396	362	396
P (ppm)	34,35	38,93	37,82	38,07

Perhitungan jumlah pupuk yang ditambahkan pada media adalah sebagai berikut:

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

dimana:

N_1 = Jumlah kekurangan pupuk

V_1 = Jumlah campuran pupuk yang akan ditambahkan

N_2 = Jumlah pupuk NPK yang ingin ditambahkan

V_2 = Kandungan komposisi yang ada pada pupuk NPK

(dimana komposisi NPK = 15 : 15 : 15)

Contoh Perhitungan

Untuk Reaktor B

Kandungan N

Dimana: N_1 = 396

V_1 =?

N_2 = 150

$$V_2 = 15$$

Maka

$$\begin{aligned} N_1 \cdot V_1 &= N_2 \cdot V_2 \\ 396 \cdot V_1 &= 150 \cdot 15 \\ V_1 &= \frac{2250}{396} \\ &= 5,68 \end{aligned}$$

Kandungan P

Dimana:

$$\begin{aligned} N_1 &= 38,93 \\ V_1 &= \text{.....?} \\ N_2 &= 15 \\ V_2 &= 15 \end{aligned}$$

maka

$$\begin{aligned} N_1 \cdot V_1 &= N_2 \cdot V_2 \\ 38,93 \cdot V_1 &= 15 \cdot 15 \\ V_1 &= \frac{225}{38,93} \\ &= 5,77 \end{aligned}$$

Maka hasil perhitungan jumlah pupuk dan jumlah campuran pupuk (jerami, kompos, wood chips, selasah) yang diperlukan tiap reaktor dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel . Jumlah Pupuk dan Campuran Pupuk yang Diperlukan

Unsur	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
N	100	150	120	150
P	10	15	12	12
Campuran Pupuk N	4,31	5,68	4,97	5,68
Campuran Pupuk P	4,37	5,77	4,76	4,73

Analisa Kadar Air

1. Memanaskan cawan di atas pada suhu 100°C selama 24 jam.
2. Setelah itu, cawan dipindahkan ke Desikator selama 15 menit
3. Kemudian timbang berat kosongnya. (a)
4. Masukkan sampel, catat berat cawan dan sampel (berat basah) (b)
5. Kemudian cawan dipanaskan di suhu 10°C, selama 24 jam.
6. Dan pindahkan cawan ke Desikator, selama 15 menit
7. Cawan dan Sampel ditimbang beratnya (berat kering) (c)
8. Hitung %Kadar Air dengan rumus:

$$= \frac{(b - a) - (c - a)}{(b - a)} \times 100\%$$



Gambar Instrumen Analisa Kelembaban

Analisa Total Petroleum Hidrokarbon (TPH)

1. Timbang botol timbang (tabung anti panas) (a)
2. Sampel tanah dihilangkan kadar airnya
3. Kemudian sampel digerus dengan mortir/ambil sampel sebanyak 5 gr (b)
4. Tambahkan pelarut organik misalnya Kloroform (CHCl_3), N-neptan, sebanyak 10 ml (c)
5. Kemudian diaduk dengan kecepatan 1000 – 2200 rpm
6. Ambil Supernatan sebanyak 5 ml (d)
7. Taruh pada botol timbang dan panaskan pada suhu $\pm 70^\circ\text{C}$ biarkan sampai yang tersisa hanya minyaknya saja.
8. Timbang tabung reaksi (e)

$$\text{TPH} = (e - a) \times (c/d) \times (1000/b)$$

$$= y \text{ (gr/l)}$$

$$= y \times 1000 \text{ (mg/l)}$$

$$= \text{ppm}$$

$$\text{Removal\%} = \frac{(\text{TPH Awal} - \text{TPH Akhir})}{\text{TPH Awal}} \times 100\%$$

Analisa Ph

1. Sampel tanah sebanyak 26 gr dimasukkan dalam Beaker Glass kemudian ditambah air destilasi sampai 50 ml.
2. Larutan tersebut diaduk beberapa menit hingga homogen dengan larutan alat Fisher Stirer.
3. Sampel kemudian dibaca dengan pH meter.

Analisa Temperatur

1. Tancapkan termometer suhu ke dalam reaktor dan biarkan selama 5 menit.
2. Kemudian catat nilainya.



Gambar Instrumen Analisa Temperatur

Analisa Pemutusan Rantai Hidrokarbon

A. Pembuatan Pelet KBr

1. Timbang serbuk KBr seberat 95 mg dan sampel 5 mg atau sesuai dengan sifat sampel dan konsentrasi yang dikehendaki.
2. Tuangkan KBr dan serbuk sampel ke dalam cawan mortir agar dan haluskan dengan penempa hingga halus dan merata.
3. Ambil kurang lebih 50 mg serbuk yang sudah dihaluskan dan masukkan ke dalam alat pencetak yang sudah tersusun, tutup dengan lempeng sembari diputar searah jarum jam sebanyak kurang lebih lima kali
4. Letakkan perangkan pencetak tadi di bawah alat penekan hidrolis dan lakukan penekanan 0 ton.
5. Hubungkan selang penghisap dari mesin penghisap ke susunan alat penghisap tadi, hidupkan mesin penghisap dan tunggu hingga lama waktu 5 menit
6. Lakukan penekanan hingga 5 ton atau sesuai dengan sifat sampel (zat) dan tunggu dengan lama waktu 5 menit lagi, setelah penghisapan mencapai 10 menit, hentikan tombol mesin penghisap
7. Ambil perangkat pencetak pelet KBr dengan cara mengempeskan mesin penekan pencetak.
8. Buka susunan pencetak satu persatu dan ambil lempeng KBr dengan hati-hati menggunakan skapel atau dengan menekan ke arah menyamping dengan kuku ibu jari.

9. Letakkan lempeng KBr dan sampel ke dalam holder, tutup selanjutnya siap untuk dianalisa di alat spektrofotometer Merah (IR).

B. Operasional Instrumen FT-IR:

1. Hidupkan CPU (On)
2. Tekan BKG dan lanjutkan dengan tombol EXE
3. Tekan pada menu COL dan isi kolom-kolom: memori, nama sampel, dan akhiri retern.
4. Masukkan pelet yang sudah tercetak ke dalam Holder dan tutup dengan penutup Holder.
5. Buka CPU tempat penempatan Holder yang sudah ada peletnya dan lakukan penutupan kembali.
6. Tekan tombol EXE dan biarkan higgs spectra dari gugus fungsi sampel muncul pada monitor.
7. Atur sesuai dengan keinginan yang kita kehendaki dengan mengatur tombol X dan Y dan akhiri dengan retern.
8. Tekan MPL, F3, isi memori 1, 2, 3, dan seterusnya dengan retern.
9. Tekan EXE dan akhiri dengan menekan PRINT.

Komposisi *Extract Yeast* yang Digunakan

No	Komponen	Konsentrasi (mg/l)
1.	Kandungan Umum (basa mineral)	500
	KH ₂ PO ₄	1500
	K ₂ HPO ₄	500
	(NH ₄) ₂ SO ₄	200
	MgSO ₄ .7H ₂ O	10 ml
	Unsur-unsur Trace (gr/l)	
	Na ₂ EDTA ₂ .H ₂ O 12 gr	
	FeSO ₄ .7H ₂ O 2 gr	
	CaCl ₂ 1 gr	
	ZnSO ₄ 0,4 gr	
	NaSO ₄ 10 gr	
	MnSO ₄ .4H ₂ O 0,4 gr	
	CuSO ₄ .5H ₂ O 0,1 gr	
	H ₂ SO ₄ pekat 0,5	
	ml	
2.	Zat tambahan	
	Yeast Extract	4000

Komposisi tersebut untuk 1 liter Aquadest



Gambar Media Tanah Tercemar Senyawa Hidrokarbon



Gambar Instrumen Analisa Inokulasi dan Pengayakan Bakteri